# Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP04/018454

International filing date: 03 December 2004 (03.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP

Number: 2003-405263

Filing date: 03 December 2003 (03.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 17 March 2005 (17.03.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in

compliance with Rule 17.1(a) or (b)



# 日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 Date of Application:

2003年12月 3日

出 願 番 号 Application Number: 特願2003-405263

[ST. 10/C]:

[JP2003-405263]

出 願 人
Applicant(s):

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構

有限会社カジックストレーディング

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 2005年 1月27日





【書類名】

特許願

【整理番号】

03ZIM002 性許庁長官殿

【あて先】

特許庁長官殿 C12N 5/06

【国際特許分類】 【発明者】

【住所又は居所】

静岡県三島市柳郷地48-3

【氏名】

西村 昭子

【発明者】

【住所又は居所】

川崎市宮前区4丁目10-28-2 有限会社カジックストレー

ディング内

【氏名】

梶谷 隆文

【特許出願人】

【識別番号】 593206872

【氏名又は名称】

国立遺伝学研究所長

【特許出願人】

【識別番号】

503385060

【氏名又は名称】

有限会社カジックストレーディング

【代理人】

【識別番号】

100085486

【弁理士】 【氏名又は名称】

廣瀬 孝美

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 【納付金額】 069339 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

特許請求の範囲 1

【物件名】

明細書 1 図面 1

【物件名】 【物件名】

要約書 1

# 【書類名】特許請求の範囲

#### 【請求項1】

(a) ボトムシート、(b) 複数の透孔を有し、ボトムシートに貼着された剥離シート、(c) 剥離シートの透孔に対応する位置に略同じ径の透孔を有し、剥離シートに貼着されたスペーサーシート、(d) スペーサーシートの透孔に対応する位置にスペーサーシートの透孔より小さな径の透孔を有し、スペーサーシートに貼着された吸水性素材固定シート、及び(e)吸水性素材固定シート上を覆うカバーシートが順次積層され、上記のスペーサーシートの透孔内に、吸水性素材が吸水性素材固定シートに貼着されて保持されていることを特徴とするマルチウェルプレート。

# 【請求項2】

包装容器に密封収容されている請求項1記載のマルチウェルプレート。

#### 【書類名】明細書

【発明の名称】マルチウェルプレート

#### 【技術分野】

#### [0001]

本発明はマルチウェルプレートに関する。より詳細には、微生物(菌体)、ファージ、 DNA、細胞などの運搬、保管などに有用な薄型マルチウェルプレートに関する。

#### 【背景技術】

# [0002]

従来から、新薬開発のソースとして微生物の産生する物質が用いられており、そのような有用産物を産生する微生物の探索が行われている。

また、昨今の遺伝子組換技術の発展により、有用物質の遺伝子を導入した微生物(形質転換体)を培養することにより、有用産物の生産が行われるようになっている。

更に、食品工業では、従前より微生物を用いた発酵により種々の食品の製造が行われて きた。

このように、医薬、生化学、食品、化学などの分野では、微生物が重要な働きをしており、クローン化された有用微生物は貴重な資源であることから慎重に保管されている。このような微生物は、通常、穿刺培養法、冷凍法、凍結乾燥法などにより保存されている。

上記の微生物を保管している研究機関などが、他の研究機関の求めに応じて、当該微生物を供給する際に微生物の運搬が行われる。微生物の運搬は、通常、微生物培養液を濾紙にスポットし、包装用ラップで包んで運搬したり、アンプルに収納した状態で運搬されている。また、微生物の数が多い場合には、マイクロタイタープレートに培養液を分注し、ビニールシートでシールして運搬したり、寒天培地にスポット植菌して運搬している。

しかし、、濾紙に吸着させて運搬する方法では雑菌が混入し易いし、運搬する微生物の数が多い場合には濾紙の枚数が増えて非効率的である。また、マイクロタイタープレート、寒天培地又はアンプルで運搬する方法では、容器の破損の問題があると共に容器が破損した場合には微生物汚染の問題もある。更に、運搬物が嵩張ることも大きな問題点である

なお、微生物用のマルチウェルプレートしては、特開2001-218575号公報、 特開2002-199874号公報などに記載のプレートが知られている。

【特許文献1】特開2001-218575号公報

【特許文献2】特開2002-199874号公報

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### [0003]

上記の問題点を解消するため、本願出願人らは、薄型のマルチウェルプレートを提案している(特願2003-359534参照)。このマルチウェルプレートは所期の目的を達成し得る優れたものである。しかし、このマルチウェルプレートを使用する場合、反転させて培地などに接触させレプリカする必要があった。そのため、マルチウェルプレート上の菌体などとレプリカされた菌体などの位置関係が鏡像関係になるため、マルチウェルプレートの菌体などの位置とレプリカされた菌体などの位置を誤認する可能性があった。

本発明は係る問題点を解決するもので、多数の微生物を簡便に且つ安全に運搬・保管しえる薄型マルチウェルプレートを提供すると共にマルチウェルプレートとレプリカされたものの位置が対応する関係となるように工夫したマルチウェルプレートを提供するものである。

# 【課題を解決するための手段】

#### [0004]

本発明のマルチウェルプレートは、(a)ボトムシート、(b)複数の透孔を有し、ボトムシートに貼着された剥離シート、(c)剥離シートの透孔に対応する位置に略同じ径の透孔を有し、剥離シートに貼着されたスペーサーシート、(d)スペーサーシートの透孔に対応する位置にスペーサーシートの透孔より小さな径の透孔を有し、スペーサーシートに貼着さ

れた吸水性素材固定シート、及び(e)吸水性素材固定シート上を覆うカバーシートが順次 積層され、上記のスペーサーシートの透孔内に、吸水性素材が吸水性素材固定シートに貼 着されて保持されていることからなる。

上記のマルチウェルプレートは、全体の厚みが3mm以下、通常は1mm以下、素材の選択によっては0.5mm以下とすることができ、超薄型のマルチウェルプレートである

# 【発明の効果】

#### [0005]

本発明のマルチウェルプレートによれば、一枚のプレートで多数の微生物(又は動物細胞)を運搬することができるので極めて効率的であり、しかも運搬容器の破損による微生物の損失や微生物汚染の問題も解消でき、更に超薄型であるので嵩張らないという特長を有し、その上ボトムシート(場合によっては剥離シート)を剥離した状態で培地に接触させてレプリカすることができるので、反転の必要がなく、菌体などの位置の誤認を防止することができるという格別の効果を奏する。

# 【発明を実施するための最良の形態】

#### [0006]

以下、図面に基づいて、本発明をより詳細に説明する。

本発明の一実施例を図1及び2に示すが、この例に限定されるものではない。図1は本発明のマルチウェルプレートの平面概略図であり、図2は図1のA-A線端面の部分拡大概念図である。図1及び図2において、1はボトムシート、2は剥離シート、3、5及び7は透孔、4はスペーサーシート、6は吸水性素材固定シート、8はカバーシート、9は吸水性素材である。

なお、図1及び図2は、本発明の一例として96ウェルのマルチウェルプレートを示しているが、ウェルの数は96に限定されるものではなく、所望に応じて適宜な数でよく、例えば6,12、24、48、384などが例示される。

また、本明細書において、シートはフィルムを含む概念である。

#### [0007]

図1及び図2において、ボトムシート1は耐水性を有する材料、好ましくはプラスチック素材からなり、例えばPET(ポリエチレンテレフタレート)、シリコーン、PE(ポリエチレン)、PP(ポリプロピレン)、PS(ポリスチレン)などが例示され、特に自己粘着性を有する素材が好ましい。

ボトムシート1の厚さは特に限定されず、剥離シート2などを保持できる強度を有すればよく、通常50~100 $\mu$ m程度のシートが用いられる。

#### [0008]

ボトムシート1の上面には、脱着自在の接着剤が塗布されており、係る接着剤層(図示は省略、以下同様)を介して剥離シート2が貼着されている。なお、ボトムシート1が自己粘着性を有する素材の場合には、上記の接着剤は使用しなくてもよい。剥離シート2には、透孔3が一列8個で12列形成されており、合計96個の透孔3が設けられている。

透孔3の形状は円筒形にされ、径としては通常直径5mm程度とされるがこの径に限定されるものではない。透孔3は通常円筒形とされるが、係る形状に特定されず、断面が矩形の孔であってもよい。なお、前述のように、係る透孔3は後述する透孔5と共にウェルを形成するものであって、その数は96個に限定されるものではない。

剥離シート2の材質は特に限定されないが、簡便に剥離できる素材が好ましく、通常はフッ素系樹脂シートが用いられる。剥離シート2の厚さは特に限定されず、通常は $30\sim70~\mu$  m程度、好ましくは $50~\mu$  m程度のシートが用いられる。

なお、剥離シート2として、プラスチック素材でサポートされた剥離シートが市販されており、これを用いてもよい。

#### [0009]

剥離シート2の上面には、接着剤層を介してスペーサーシート4が貼着されている。スペーサーシート4には、剥離シート2の透孔3に対応する位置に、剥離シート2の透孔3

と略同じ径の透孔5が設けられている。

スペーサーシート4は耐水性を有する材料、好ましくはプラスチック素材からなり、例 えばPET、シリコーン、PE、PP、PSなどが例示される。

スペーサーシート 4 の厚さは、後述する吸水性素材 9 の厚みと略同じ程度に調節され、通常 1 0 0 ~ 2 0 0  $\mu$  m程度、好ましくは 1 5 0  $\mu$  m程度のシートが用いられる。

# [0010]

スペーサーシート4の上面には接着剤層を介して吸水性素材固定シート6が貼着されている。吸水性素材固定シート6にも、スペーサーシート4の透孔5に対応する位置に、スペーサーシート4の透孔5よりやや小さめの径を有する透孔7が設けられている。より具体的には、透孔7の径は、後述する吸水性素材9の径よりも小さくなるように設計する。

吸水性素材固定シート6は耐水性を有する材料、好ましくはプラスチック素材からなり、例えばPET、シリコーン、PE、PP、PSなどが例示される。

吸水性素材シート 6 の厚さは、後述する吸水性素材 9 を支持できる程度のものであればよく、通常 5 0 ~ 1 0 0  $\mu$  m程度、好ましくは 8 0  $\mu$  m程度のシートが用いられる。

#### [0011]

吸水性素材固定シート6の上面はカバーシート8で全面が覆われている。カバーシート8は前記ボトムシート1と同じ材質・厚みのものが使用され、自己粘着性を有するものが好ましい。

# [0012]

前記のスペーサーシート4の透孔5内には吸水性素材9が収納されている。吸水性素材9はその上面周囲で吸水性素材固定シート6に貼着されることにより支持されている。

吸水性素材 9 は、運搬の対象物(例えば微生物含有液)を滲み込ませ、保持できる材質であれば特に限定されないが、繊維状素材が好ましく、例えば濾紙、不織布、フエルトなどが例示される。

吸水性素材 9 の形状は、透孔 5 に適合するような形状であればよく、前述のように透孔 3 及び 5 が直径 5 mm程度とされる場合には、吸水性素材 9 は直径 3 mm程度に調製される。

#### [0013]

上記の構成からなる本発明のマルチウェルプレートを調製する際には、まずカバーシート8の上に吸水性素材固定シート6を貼着させ、次いでスペーサーシート4を貼着すると共に各透孔7に吸水性素材9を入れ、押圧することにより吸水性素材固定シート6に貼着し、更に剥離シート2及びボトムシート1を順次貼着し、次いで全体を反転させることにより製造することができる。

#### $[0\ 0\ 1\ 4]$

かくして調製された本発明のマルチウェルプレートは、密封可能の容器(例えば、ポリ袋、ポリ容器等)に収容し、密封するの好ましい。容器としては、ポリ袋が簡便で好ましい。

#### [0015]

以下、本発明のマルチウェルプレートの使用方法を、運搬対象物として微生物含有液を 用いた場合で説明する。

上記のように、密封容器に収容されたマルチウェルプレートは、慣用の滅菌手段(例えば、電子線滅菌、ガンマー線滅菌、高圧蒸気滅菌等)で滅菌する。この滅菌状態で、使用者に供給される。

使用者は、クリーンルームで容器を開封し、本発明のマルチウェルプレートを取り出し、取り出した後、カバーシート8を剥離する。

かくして、上面を開放した後、透孔7を介して吸水性素材9に微生物含有液を滴下し、 滲み込ませて微生物(菌株)を保持する。微生物含有液は、通常、定常期まで培養・保存 されている微生物を慣用の媒体(例えば、生理食塩水等)に分散させた液が用いられる。 微生物含有液の滴下量は適宜選択することができるが、通常10μ1程度とされる。

#### [0016]

なお、本発明のマルチウェルプレートには複数の吸水性素材9が設けられているので、 それぞれに異なった微生物(菌株)を保持することができる。即ち、添付図面の96穴マ ルチウェルプレートであれば、96種類の微生物を保持することができる。

かくして、各吸水性素材 9 に微生物を保持した後、カバーシート 8 で吸水性素材固定シート 6 の上面を覆う。カバーシート 8 で覆うことにより、雑菌のコンタミネーションを防止すると共に孔相互間の混入を防ぐことができる。

# [0017]

カバーシート8で被覆した後、前述の容器(好ましくはポリ袋)に収納し、開口部を慣用の密封手段(例えば、ヒートシール、密封チャック等)で密封し、運搬に供する。

運搬された本発明のマルチウェルプレートは、受け取った使用者がクリーンルームで開 封し、ボトムシート1を剥離した後、慣用の固型培地に密着させ、当該培地上にレプリカ することにより、プレート上の全微生物を一度に培養することができる。

この際、マルチウェルプレートに保持された微生物は、固形培地の上にそのままレプリカされるので、位置関係が明確になり、微生物の誤認を防止することができる。また、剥離シート2が付いた状態なので、培地に対する接着剤の影響を回避することができる。

なお、運搬対象物がDNAなどのPCR用検体の場合には、ボトムシート1と共に剥離シート2も剥離して密着させてもよい。

#### [0018]

なお、上記の微生物については特に限定されず、例えば大腸菌、枯草菌、酵母などが例示される。また、当該微生物は、組換遺伝子を含む形質転換体であってもよく、更には組換遺伝子を有するファージが感染した微生物であってもよい。更に、凍結保存が可能な微生物においては、適当な凍結保護剤(例えば、DMSO等)を含む微生物含有液を、前記吸水性素材 9 に滴下し、以下は上記と同様に密封した後、凍結処理をしてもよい。係る態様によれば、凍結状態で微生物を保管することが可能になる。

# [0019]

本発明のマルチウェルプレートは、微生物の運搬に供される他、動物細胞の運搬にも利用可能である。動物細胞は通常足場依存性を有するが、前記の吸水性素材 9 が動物細胞の足場として機能する。従って、動物細胞含有液を、前記の吸水性素材 4 に滴下し、以下は上記と同様に密封することにより、動物細胞の運搬に供することができる。この際、当該動物細胞含有液に凍結保護剤を添加することにより、凍結状態で動物細胞を運搬し、また保存することも可能である。

動物細胞としては、慣用の株化細胞の他、組換遺伝子を含む動物細胞(形質転換体)であってもよい。係る形質転換体の調製に用いられる動物細胞としては、遺伝子組換技術で繁用される動物細胞、例えば、マウス線維芽細胞C127、チャイニーズハムスター卵巣細胞CHO、サルCOS細胞などが例示される。

#### 【実施例】

# [0020]

以下、実施例に基づいて、本発明をより詳細に説明するが、本発明はこの例に限定されるものではない。

#### 実施例1

カバーシートとして自己粘着性を有する P E 製シート (F S K 社製、85mm×145mm×80  $\mu$  m) を用いた。

カバーシート上に、図1に示されるように一列8個で12列の等間隔で設けた透孔(直径約2mm)を有するPET製吸水性素材固定シート(日東シール社製、85mm×145mm×80 $\mu$ m)に重ね合わせて貼着した。更に、吸水性素材固定シートの非貼着面にシリコン系接着剤(以下、接着剤は同じものを使用した)を均一に塗布した。

吸水性素材固定シートの接着剤面に、吸水性素材固定シートの透孔に対応する位置に透孔(直径約5 mm)を有するPET製スペーサーシート(電気化学工業社製、85mm×145m  $m \times 150 \, \mu$  m)を、透孔の中心が略一致するように重ね合わせて貼着した。次いで、スペーサーシートの各透孔に、濾紙(直径約3 mm、厚さ約150  $\mu$  m)を入れ、押圧すること

により濾紙を吸水性素材固定シートに貼着させた。更に、スペーサーシートの非貼着面に接着剤を塗布した。

上記スペーサーシートの接着剤面に、スペーサーシートの透孔に対応する位置に透孔( 直径約 5 mm)を有するフッ素樹脂製剥離シート(85mm×145mm×50  $\mu$  m)を、透孔の中心 が略一致するように重ね合わせて貼着した。

また、ボトムシートとして、カバーシートと同じものを使用し、それを剥離シートに全面に重ね合わせて貼着した。

次いで、上記の積層体を反転させることにより、図1及び2に示される本発明のマルチウエルプレートを作製した。

得られたマルチウエルプレートは、ポリ袋 (220mm×95mm) に収容し、開口部をヒートシールした後、電子線滅菌処理を行った。

# 【産業上の利用可能性】

# [0021]

有用微生物、動物細胞、DNAなどの運搬・保存に広く利用することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

#### [0022]

【図1】本発明のマルチウェルプレートの一例を示す平面概略図である。

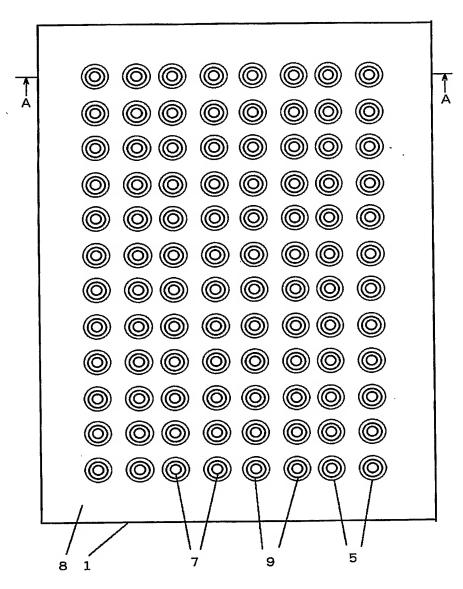
【図2】図1のA-A線端面の部分拡大概念図である。

# 【符号の説明】

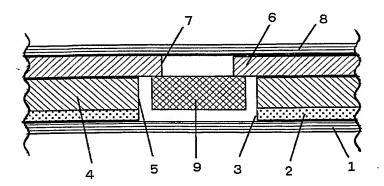
# [0023]

- 1 ボトムシート
- 2 剥離シート
- 3、5、7 透孔
- 4 スペーサーシート
- 6 吸水性素材固定シート
- 8 カバーシート
- 9 吸水性素材

【書類名】図面 【図1】



【図2】



# 【書類名】要約書

【要約】

【課題】微生物、動物細胞、DNAなどの運搬に使用される薄型マルチウェルプレートを 提供する。

【解決手段】本発明のマルチウェルプレートは、(a)ボトムシート、(b)複数の透孔を有し、ボトムシートに貼着された剥離シート、(c)剥離シートの透孔に対応する位置に略同じ径の透孔を有し、剥離シートに貼着されたスペーサーシート、(d)スペーサーシートの透孔に対応する位置にスペーサーシートの透孔より小さな径の透孔を有し、スペーサーシートに貼着された吸水性素材固定シート、及び(e)吸水性素材固定シート上を覆うカバーシートが順次積層され、上記のスペーサーシートの透孔内に、吸水性素材が吸水性素材固定シートに貼着されて保持されていることからなる。各吸水性素材に、微生物などを保持することにより、簡便且つ安全に多くの微生物などを運搬することができる。

【選択図】 なし

# 認定・付加情報

特許出願の番号 特願2003-405263

受付番号 50301997038

書類名 特許願

担当官 鈴木 夏生 6890

作成日 平成16年 4月 8日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年12月 3日

【特許出願人】

【識別番号】 593206872

【住所又は居所】 静岡県三島市谷田1111番地

【氏名又は名称】 国立遺伝学研究所長

【特許出願人】

【識別番号】 503385060

【住所又は居所】 川崎市宮前区4丁目10-28-2

【氏名又は名称】 有限会社カジックストレーディング

【代理人】 申請人

【識別番号】 100085486

【住所又は居所】 大阪府大阪市北区西天満5丁目13番3号 高橋

ビル 北3号館6階 廣瀬特許事務所

【氏名又は名称】 廣瀬 孝美

【書類名】 手続補正書

【提出日】 平成16年 3月 3日

【あて先】 特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】 特願2003-405263

【補正をする者】

【識別番号】 503385060

【氏名又は名称】 有限会社カジックストレーディング

【代理人】

【識別番号】 100085486

【弁理士】

【氏名又は名称】 廣瀬 孝美

【発送番号】 003045

【手数料補正】

【補正対象書類名】 特許願

# 認定・付加情報

特許出願の番号

特願2003-405263

受付番号

2 0 4 0 0 4 3 0 0 0 3

書類名

手続補正書

担当官

鈴木 夏生

6 8 9 0

作成日

平成16年 4月 8日

<認定情報・付加情報>

【補正をする者】

【識別番号】

503385060

【住所又は居所】

川崎市宮前区4丁目10-28-2

【氏名又は名称】

有限会社カジックストレーディング

【代理人】

申請人

【識別番号】

100085486

【住所又は居所】

大阪府大阪市北区西天満5丁目13番3号 高橋

ビル 北3号館6階 廣瀬特許事務所

【氏名又は名称】

廣瀬 孝美

【書類名】

出願人名義変更届 (一般承継)

【提出日】

平成16年 9月 6日

【あて先】

特許庁長官殿

【事件の表示】

【出願番号】

特願2003-405263

【承継人】

【識別番号】

504202472

【住所又は居所】

東京都港区南麻布四丁目6番7号

【氏名又は名称】

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構

【代表者】

機構長 堀田 凱樹

【連絡先】

部署名 国立遺伝学研究所 広報・知財権研究室 担当者 富川

宗博 電話番号 055-981-5831

【その他】

15文科会第1999号に基づく承継

# 認定・付加情報

特許出願の番号

特願2003-405263

受付番号

2 0 4 0 1 7 3 0 0 3 8

書類名

出願人名義変更届 (一般承継)

担当官

鈴木 夏生

6890

作成日

平成16年10月29日

<認定情報・付加情報>

【提出日】

平成16年 9月 8日

【書留番号】

208XX181

特願2003-405263

出願人履歴情報

識別番号

[593206872]

1. 変更年月日

1993年11月12日

[変更理由]

新規登録

住 所

静岡県三島市谷田1111番地

氏 名 国立遺伝学研究所長

# 特願2003-405263

# 出願人履歴情報

識別番号

[503385060]

1. 変更年月日

2003年10月20日

[変更理由]

新規登録

住 所 名

川崎市宮前区4丁目10-28-2 有限会社カジックストレーディング

2. 変更年月日

2004年 4月23日

[変更理由]

住所変更

住 所

神奈川県川崎市宮前区平4丁目10-28-2

氏 名

有限会社カジックストレーディング

特願2003-405263

出願人履歴情報

識別番号

[504202472]

1. 変更年月日

2004年 5月26日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区南麻布四丁目6番7号

氏 名 大学共同利用機関法人情報・システム研究機構